

재조합 mannose-binding lectin 단백질과 anti-mannose-binding lectin polyclonal 항체 제작

권현미 · 박정애¹ · 최병태² · 최영현² · 정경태^{3*}

부산대학교 제약학과, ¹동의대학교 생명응용학과, ²동의대학교 한의학과, ³동의대학교 임상병리학과

Received January 30, 2009 / Accepted February 16, 2009

Recombinant Mannose-binding Lectin Protein and Anti-Mannose-binding Lectin Polyclonal Antibody Production. Hyun Mi Kwon, Jung Ae Park¹, Byung Tae Choi², Yung Hyun Choi³ and Kyung Tae Chung^{3*}. College of Pharmacy, Pusan University, ¹Department of Life Science and Biotechnology, ²Department of Oriental medicine, ³Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan, Korea - The innate immune system is important for the first line of host defence against infectious agents, which have penetrated the mechanical barriers. Mannose-binding lectin (MBL or mannan-binding protein, MBP) is a serum protein that is synthesized in the liver as a part of the acute phase response. MBL binds to carbohydrate structures presented by a wide range of pathogenic bacteria, viruses, fungi, and parasites. MBL is synthesized as a monomer that has a carboxy-terminal carbohydrate recognition domain, a neck region and a collagen region. Low MBL level was reported to be the most frequent immuno-deficiency syndrome. Although extensive studies have yielded detailed information on the structure of MBL, functions of the MBL complex are not fully understood yet. We, here, present cloning process of MBL cDNA from the rat liver and production of truncated recombinant MBL protein using a bacterial expression system in order to produce anti-MBL polyclonal antibody. Anti-MBL polyclonal antibody was raised in a New Zealand rabbit and its affinity was tested against recombinant protein using western blot technique. MBL cDNA, recombinant protein and anti-MBL antibody could be used as great arsenals to dissect cellular biochemistry of MBL.

Key words : Mannose-binding lectin, MBL, mannose-binding protein, MBP in Korea

서 론

Mannose-binding lectin (MBL)은 콜라겐과 같은 구조를 가지면서 동시에 lectin domain을 가지는 collectin 단백질군에 속한다[8,13]. 이 단백질들은 다양한 범위의 바이러스, 세균, 효모, 곰팡이 및 원생동물 표면의 당쇄와 결합을 한다[11-14]. 혈청에서 낮은 농도의 MBL은 미생물 감염에 즉각적으로 반응하여 2-5배의 농도가 증가한다[17]. 특이하게도 MBL은 미생물 표면에 결합하여 항체와 C1 의존적인 보체결합 반응을 유발하며[4], 이 유발과정은 C4와 C2를 절단하여 C3 convertase로 만들어 주는 MBL-associated protease 2 (MASP-2)에 의해 일어난다[2,4,18]. MBL은 또한 식세포의 세포 표면 receptor와 직접적으로 결합하여 보체작용 없이 opsonophagocytosis를 촉진한다. 그러므로, MBL은 당쇄로 장식된 병원균의 초기감염 몇 시간 내지 수일의 일차 면역 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 제시되고 있다[11]. 이러한 이유로 MBL은 획득면역이 작용하기 전에 제1선의 방어를 제공하며[15] 특히, 획득면역이 미성숙한 시기인 영아기에 있어서 중요한 역할을 하는 것

으로 알려져 있다[9,10].

선천성 면역는 미생물의 감염성 침입의 초기에 숙주를 보호하도록 진화되었다. 혈청에 존재하는 MBL과 세포막에 존재하는 mannose receptor는 선천성 면역을 구성하는 중요한 병원 미생물의 pattern을 인식하는 분자들이다[3]. 이들 분자의 리간드 결합 특이성이 self와 nonself를 구별 짓는 중요한 열쇠가 된다. 병원미생물의 특징적인 pattern을 인식함으로써 MBL은 획득면역체계의 다른 분자들과 상호작용을 하며, 선천성 면역와 획득면역을 연결한다[5].

따라서, 혈청 내 MBL의 결핍 또는 농도 감소는 사람에게 있어서 가장 흔한 면역결핍증 중의 하나를 초래한다. MBL이 결핍된 사람은 전체적으로 감염성 질병에 잘 걸리며, 가장 두드러진 예로서는 유아기에 발생하는 급성호흡기 감염이다 [19]. 뿐만 아니라 어른에게서도 면역결핍증을 초래한다는 보고가 있다[16]. MBL 결핍은 MBL을 코드하는 MBL2 유전자에 세 종류의 점돌연변이로 인하여 아미노산이 치환되어 가능성이 결여된 MBL이 생산되고, 결과적으로 혈청 내 정상적인 MBL의 농도가 낮아져서 발생하는 것으로 알려져 있다 [7]. 또한, MBL2 promoter 지역에서 관찰되는 세 종류의 polymorphisms도 급격한 농도저하의 원인이라는 것이 밝혀져 있다.

MBL에 대한 연구는 의학적 중요성으로 세계적으로 연구되

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2681, Fax : +82-51-890-2622

E-mail : kchung@deu.ac.kr

고 있으나 국내에서는 그 연구가 미미하다. 따라서 본 연구는 MBL 연구를 위하여 필수적인 cDNA와 MBL을 인식하는 항체 제작에 대한 연구 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

MBL cDNA Cloning

오리엔트바이오 회사에서 구입한 Sprague Dawley rat의 간 조직을 적출하고 RNeasy Mini kit (Qiagen)을 사용하여 총 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 Super Script™ II reverse transcriptase (Invitrogen)를 사용하여 Invitrogen에서 제시한 방법에 따라 cDNA를 제조하였다. 제조된 cDNA와 forward primer AACAAAGGATCCACCATGCTCTGCTTC CACTG, reverse primer AATATCTCGAGTCAGGCTGGGA ACTCGGACAC를 사용하여 PCR을 실시하였다. 각 primer는 차후 pCDNA 삽입을 위하여 BamHI과 XhoI 제한효소 서열을 함유하도록 하였다. PCR 조건은 95°C 1분, 55°C 2분, 72°C 2분에서 30 cycles이었다. PCR 산물은 rMBL이라 명명하였으며, 1% agarose 전기영동으로 확인하였으며, pGEM-T 벡터 (Promega)에 삽입하여 pGEMrMBL를 제조하였다. 추후 포유 동물 세포 내 발현을 위하여 pGEMrMBL를 BamHI과 XhoI로 절단하여 pcDNA vector (Invitrogen)에 삽입하여 pCrMBL를 구축하였다.

제조할 단백질 제조에 사용될 제조할 DNA는 MBL 단백질의 아미노산 18에서 132를 암호화하는 부분 DNA로서 forward primer TTATAGGATCCTCAGGGTCACAAACCTGT GAG와 reverse primer GCGCGAAGCTTGTGGTCACAAA GAACCTCTT를 사용하여, PCR 조건 95°C 1분, 55°C 2분, 72°C 2분에서 30 cycles을 실시하여 제조하였다. PCR 산물은 pGEM-T 벡터 삽입한 후 BamHI과 HindIII로 절단하여 pQE30 (Qiagen)에 삽입하여 pQErMBL132를 제조하였다. 제조한 모든 DNA는 솔젠트사(대전)에서 서열을 분석하여 확인하였다.

MBL 제조할 단백질 생산

제조한 pQErMBL132로 *E. coli* M15 (Qiagen)를 형질전환시킨 제조할체를 ampicillin (100 µg/ml)과 kanamycin (25 µg/ml)을 함유한 LB배지 20 ml에 접종하여 37°C에서 18시간 동안 진탕배양하였다. 배양액 10 ml을 취하여 새로운 200 ml LB배지에 접종하여 동일한 조건 하에서 OD값이 600 nm에서 0.6이 되도록 배양한 후 1 mM IPTG를 첨가하고 약 4 시간 동안 배양하여 제조할 MBL 단백질의 발현을 유도하였다. 배양 후 균체를 원심분리하여 회수하고 PBS로 3회 세척을 하였다. 균체 내에 존재하는 발현된 제조할 MBL 단백질은 Qiagen에서 제시한 방법에 따라 Ni²⁺-agarose를 사용하여 분리 정제하였다. 간략하게 서술하면, 세척한 균체를 lysis buffer에 현탁하여 Duty cycle 80%의 초음파로 파쇄한 후 4°C에서 37,000 xg로

30분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 상등액을 Ni²⁺-agarose affinity column (bed volume: 1 ml)에 통과시켜 제조할 MBL 단백질을 흡착시켰다. Washing buffer로 column을 세척한 후 흡착된 제조할 MBL 단백질을 50 mM - 250 mM imidazole 농도구배로 용출하였으며, 각각의 분획은 12% acrylamide gel을 사용하여 SDS-PAGE로 확인하였다.

MBL에 대한 polyclonal 항체 생산

정제된 제조할 MBL 단백질을 4°C PBS에서 투석을 행한 후 약 1 mg을 complete adjuvant (Sigma)와 1:1로 혼합하여 New Zealand 토끼에 피하 주사하였다. 2주 후 boost를 첫 번째 면역주사와 동일하게 실시하였고, 다시 2주 후 marginal ear vein에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 상온에서 응고시킨 후 혈청을 회수하여 polyclonal 항체로 사용하였다[1].

Western Blot Analysis

Ni²⁺-agarose column에서 회수한 각 분획을 12% minigel을 사용하여 SDS-PAGE로 분리한 후 Bio-Rad사의 Trans-Blot 장치를 사용하여 nitrocellulose membrane에 단백질을 흡착시켰다. 2% skim milk로 nitrocellulose membrane을 blocking 한 후 anti-MBL 항체(1:1,000 titer)를 4°C에서 18 시간 반응시켰다. 이차항체로 goat anti-rabbit IgG peroxidase conjugate (1:1,000 titer, Sigma)를 사용하여 한 시간 반응시킨 후 ECL kit (Amersham Pharmacia Biotech)와 X-ray 필름으로 반응을 확인하였다.

결과 및 고찰

쥐의 MBL 유전자는 사람의 MBL 유전자(MBL2)와 DNA 상동성이 매우 높아 사람 MBL의 연구 모델로서 많이 사용되고 있다[20]. MBL2 내에서 발견되는 세 종류의 점돌연변이로 인하여 치환된 아미노산을 쥐 MBL 단백질에 도입하기 위해서는 rMBL 유전자 구축이 선행되어야 한다. Sprague Dawley종 쥐의 간으로부터 rMBL cDNA를 제조하였다. 소량의 간 조직을 적출하여 Qiagen사의 RNeasy Mini Kit 매뉴얼에 따라 총 RNA를 추출하였으며, reverse transcriptase-PCR을 실시하여 rMBL cDNA를 제조하였다. 제조한 cDNA는 TA-cloning을 하였으며, 포유동물 세포에서 발현을 위하여 pCDNA vector에 구축하였다(Fig. 1). 제조된 rMBL cDNA의 서열을 분석한 결과는 cDNA가 정상임을 나타내었다(Fig. 2).

항체 생산을 위한 제조할 단백질은 MBL의 signal sequence를 제외하고 N-말단 도메인 부분으로 이루어지도록 하였다. 즉, MBL 단백질의 아미노산 18에서 132에 해당하는 부분을 암호화하는 cDNA (MBL132)를 다시 cloning 하여, 제조할 단백질 생산을 위하여 pQE30 vector에 삽입하였다.

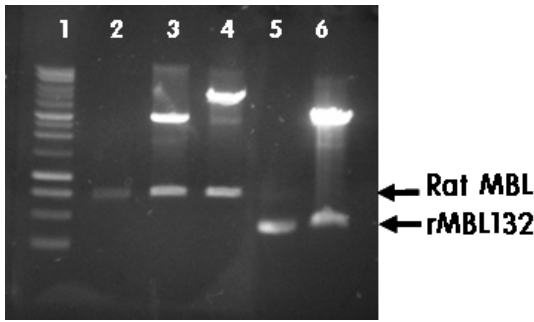


Fig. 1. DNA agarose gel of full length and truncated rMBL cDNA. Each cDNA was analyzed on a 1% agarose gel. Lane 1: DNA marker, lane 2: rat MBL PCR product, lane 3: double digested pGEMrMBL, lane 4: double digested pcDNArMBL, lane 5: rMBL132 PCR product, lane 6: double digested pQErMBL132.

```

1 - ATGCTCTGCTTCCACTGCTGCTCTCTCTCTCTGTGTAGTGAGCGTGTCTCATCAGGGTCA - 60
1 - M L L L L P L L V L L L C V V S V S S S G S - 20
61 - CAAACCTGTGAGGAAACCTGAAGACTTGTCTGTGATAGCCTGCGGCAGAGACGGGAGA - 120
21 - Q T C E E T L K T C S V I A C G R D G R - 40
121 - GATGGCCCAAGGGGAGAAGGAGAACAGGTCAAGGGCTCAGGGGCTTGCGAGGGCCCT - 180
41 - D G P K G E K G E P G Q G L R G L Q G P - 60
181 - CCAGGAAACTGGGGCTCCAGGAAGTGTAGGAGCCCTGGAAGTCAAGGACCAAAAGGC - 240
61 - P G K L G P P G S V G A P G S Q G P K G - 80
241 - CAAAAAGGGAGCTGGAGACAGCAGAGCCATTGAGGTGAAGTGGCAAATATGGAGGCA - 300
81 - Q K G D R G D S R A I E V K L A N M E A - 100
301 - GAGATAAACCCCTGAAGTCAAAGCTGGAGCTAACCAACAAGTTGCATGCCCTTCTCCATG - 360
101 - E I N T L K S K L E L T N K L H A F S M - 120
361 - GGTAAGGCTGGGAAGAAGTTCTTTGTGACCAACCATGAAAGGATGCCCTTTTCCAAA - 420
121 - G K K S G K K F F V T N H E R M P F S K - 140
421 - GTCAGGCCCTGTGCTCAGAGCTCCGAGGCACTGTGGCTATCCCAAGAATGCTGAGGAG - 480
141 - V K A L C S E L R G T V A I P K N A E E - 160
481 - AACAGGCCATCCAAGAAGTGGGTAAAACCTCTGCCTTCTCAGGCATCAGGACGAGGTTG - 540
161 - N K A I Q E V A K T S A F L G I T D E V - 180
541 - ACTGAGGCCAATTCATGTATGTGACAGGGGGAGGCTCACGTACAGCAACTGGAAAAAG - 600
181 - T E G Q F M Y V T G G R L T Y S N W K K - 200
601 - GATGAGCCCAATGACCATGGCTCTGGGGAAGACTGTGTCACATATAGTAGACACGCTCTG - 660
201 - D E P N D H G S G E D C V T I V D N G L - 220
661 - TGGATGACATCTCTGCCAAGCTTCCACACAGGCTGTCTGCGAGTCCGAGCCTGA - 717
221 - W N D I S C Q A S H T A V C E F P A * - 240
    
```

Fig. 2. cDNA sequence and deduced amino acid sequence of rat MBL. Coding sequence of rat MBL cDNA and deduced amino acid sequence are shown. Underline part is endoplasmic reticulum targeting signal sequence and bold amino acid letters are part of recombinant MBL protein (rMBL132).

(Fig. 1과 2). Quigen사에서 판매하는 pQE vector 시리즈는 6 개의 histidine 아미노산을 재조합 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 부가하여 Ni²⁺-agarose affinity column으로 쉽게 정제될 수 있도록 구성되어 있다. pQE30 vector는 재조합 단백질의 N-말단에 6 개의 histidine 아미노산이 부착되도록 구성되어 있다. 포유동물 유래 유전자를 대장균에서 발현하는 경우 흔히 inclusion body가 형성되어 분리정제가 어려운 경우가 많은데, 본 연구에서 제조한 cDNA 부분이 항체생성에 충분한 길이의 N-말단 도메인만을 발현한 이유인지 용해성 재조합 MBL이 생산되었다. 정제과정에서 대부분의 재조

합 단백질은 Ni²⁺-agarose affinity column에 흡착되었으며 column washing 단계에서 다른 단백질이 제거되었다. 50~100 mM imidazole 농도에서 비특이적으로 결합되어 있던 단백질들이 column에서 제거되었다. 150 mM에서부터 약간의 재조합 단백질이 column에서 분리되어 회수 되었지만 250 mM에서 최대 분리되었다(Fig. 3).

Ni²⁺-agarose affinity column을 사용하여 분리 정제한 재조합 단백질에는 용출을 위해 사용된 고농도의 염과 imidazole이 함유되어 있어 재조합 단백질을 항원으로 사용하기 전에 이들을 투석으로 제거하였다. 투석 후 회수한 약 1 mg의 재조합 단백질을 complete adjuvant와 혼합하여 New Zealand 토끼의 피하에 주사하였다. 2차 boost 면역주사는 1차 면역주사를 실시한 2 주 후에 동일한 방법으로 실시하였다. 혈액은 2차 boost 면역주사를 실시한 2 주 후에 marginal ear vein에서 채취하였다[1]. 채취한 혈액은 상온에서 응고시켜 적혈구를 포함한 혈구와 응고인자들을 제거하였다. 회수한 혈청(anti-serum)을 anti-MBL 항체로 사용하였다.

생산된 anti-MBL 항체의 항원 반응성을 확인하기 위하여 앞서 정제과정에서 획득한 여러 분획을 SDS-PAGE에서 분리하여 nitrocellulose membrane에 전이하여 흡착시켰다. 예비 실험에서 anti-MBL 항체를 1:500 titer로 희석하여 western blot을 실시하였을 때 ECL 형광반응이 강하게 나타나 본 실험에서는 1:1,000 titer로 western blot을 실시하였다. 재조합 단백질의 이론적 분자량은 11,880 dalton이나 SDS-PAGE에서는 약 18,000 dalton으로 나타났다(Fig. 3, 4). Western blot 결과 정제된 재조합 단백질의 시료가 정제되지 않은 시료의 단백질

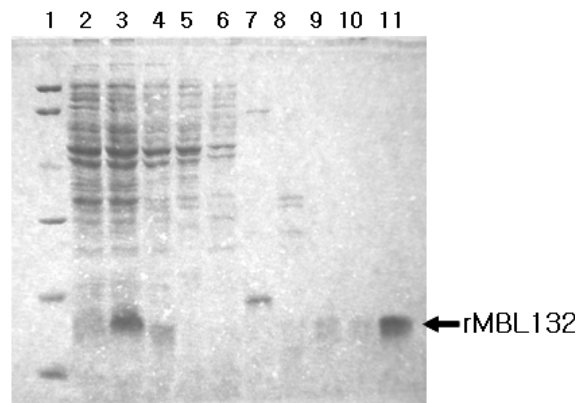


Fig. 3. SDS-PAGE of recombinant MBL protein from Ni²⁺-agarose column. Each fraction of Ni²⁺-agarose column chromatography was applied for SDS-PAGE. Lane 1: Biod-Rad low molecular weight protein marker, lane 2: noninduced whole bacteria, 3: IPTG-induced whole bacteria, lane 4: IPTG-induced bacterial lysate, lane 5: Flowthrough, lane 6: washing, lane 7: 50 mM imidazole eluent, lane 8: 100 mM imidazole eluent, lane 9: 150 mM imidazole eluent, lane 10: 200 mM imidazole eluent, lane 11: 250 mM imidazole eluent.

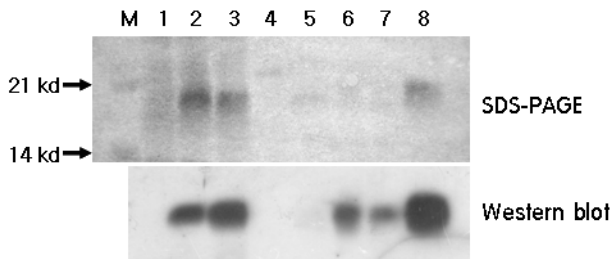


Fig. 4. Western blot analysis of recombinant MBL protein with anti-MBL antibody. A. Fractions from Ni²⁺-agarose column chromatography was applied for SDS-PAGE and gel was stained with Coomassie blue. B. Identical gel was transferred onto nitrocellulose membrane and immunoblotted with anti-MBL sera (1:1000). Lane M: Biod-Rad low molecular weight protein marker, lane 1: non-induced whole bacteria, 2: IPTG-induced whole bacteria, lane 3: IPTG-induced bacterial lysate, lane 4: washing, lane 5: 50 mM imidazole eluent, lane 6: 100 mM imidazole eluent, lane 7: 150 mM imidazole eluent, lane 8: 200 mM imidazole eluent, lane 9: 250 mM imidazole eluent.

의 양보다 적지만 형광반응이 상대적으로 높게 나타났다(Fig. 4). 이는 정제되지 않은 시료에는 재조합 단백질과 비슷한 크기의 단백질이 존재하는 것으로 추측된다. 그 이유로는 50 mM imidazole eluent에 재조합 단백질과 비슷한 크기의 단백질이 Coomassie 염색으로 관찰되었으나 항원-항체에 대한 형광반응은 전혀 나타나지 않았다(Fig. 4, lane 5). 본 연구에서 생산된 anti-MBL 항체는 세균 유래 다른 단백질과는 거의 반응성이 없는 것으로 여겨지며, 1:1,000의 titer로도 명확한 결과를 나타내어 항원-항체 affinity도 높다고 생각된다(Fig. 4). 그러나 면역침강반응과 immunocytochemistry (또는 immunohistochemistry) 실험 등에 대한 항체 반응성 연구가 아직 이루어지지 않아 이러한 실험을 위해서는 항체를 정제할 필요가 있다고 생각되며, 정제된 항체를 사용하여 실험 목적에 따라 자세한 titer를 설정해야 한다고 여겨진다.

본 연구의 주된 목적은 MBL 연구를 위한 cDNA의 확보와 MBL 단백질을 인식할 수 있는 titer가 높은 항체생산에 있었다. MBL는 선천성 면역에 중요한 역할을 하는 면역 단백질로서 mannose를 기본으로 하는 세균, 바이러스, 곰팡이와 같은 미생물의 표면 구조를 인식하여 opsonin으로 작용하며, complement 경로를 활성화시켜 병원성 미생물의 용균을 유발하거나, 식균작용(phagocytosis)에도 관여하고 있다[2,4,5,8,10]. MBL의 중요성은 임상적으로도 증명되어 왔다. 사람의 경우 MBL 유전자 *MBL2*에 3 가지 다른 점돌연변이가 발견되었으며, 이들은 codon 54가 GGC에서 GAC (glycine에서 aspartic acid)로, codon 57이 GGA에서 GAA (glycine에서 glutamic acid)로, codon 52가 CGT에서 TGT (arginine에서 cysteine)로 치환되어 있다[6,20]. 이들 점돌연변이로 말미암아 MBL의 혈청 내 농도가 거의 90%가 감소하는 현상을 나타내며, 이런

돌연변이 유전자를 지니고 있는 사람은 혈청 내 MBL의 기능 부족으로 선천성 면역 반응이 정상적으로 작동하지 않게 되고 결국 반복적인 감염에 노출되어 심각한 위협을 받게 된다[7]. 외국에서는 이런 MBL의 중요성 때문에 MBL의 연구가 매우 활발하다[3]. MBL의 연구가 미미한 국내에서도 향후 MBL의 연구가 활발하게 되기를 기대하며, 본 연구에서 획득한 항체가 국내연구에 미약하나마 도움이 되기를 바란다.

요 약

선천성 면역는 숙주의 물리적 방어벽을 뚫고 침입하는 감염성 질병 원인균에 대항하는 첫 번째 방어로서 아주 중요한 역할을 한다. Mannose-binding lectin (MBL 또는 mannan-binding protein, MBP)은 혈청 내에 존재하는 면역성 단백질로서 감염 후 즉시 유발되는 acute phase response의 특정 단백질이다. MBL 단백질은 세균, 바이러스, 곰팡이, 기생충 등의 탄수화합물 구조에 결합하여 식균 작용을 돕거나 보체경로를 활성화 시킨다. MBL 단백질은 C-말단이 탄수화물을 인식하는 도메인이며, 연결 목 부위와 콜라겐 부위로 구성되어 있다. 혈청 내의 MBL 농도가 낮으면 높은 빈도로 면역결핍 현상이 관찰된다고 알려져 있다. MBL 단백질의 기능과 유전에 대해 많은 연구가 되어져 왔으나 아직 MBL 단백질 복합체 등에 대한 연구는 많이 이루어져 있지 않다. 따라서 MBL 연구에 필수적인 MBL cDNA 제조와 재조합 단백질의 합성, 그리고 재조합 단백질을 항원으로 사용하여 polyclonal antibody를 생산한 연구 결과를 보고하는 바이다. 본 연구결과로 획득한 MBL cDNA, 재조합 단백질과 anti-MBL 항체는 앞으로의 MBL 연구에 절대적으로 필요한 도구가 될 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2006년 동의대학교 교내연구비(2006AA093)에 의해 연구되었음.

References

- Cooper, H. M. and Y. Paterson. 1991. Production of Antibodies, 2.4.1-2.4.7 In Coligan, J. E., A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, and W. Strober (eds.) *Current Protocols in Immunology*, John Wiley and Sons, New York.
- Degn, S. E., S. Thiel, and J. C. Jensenius. 2007. New perspectives on mannan-binding lectin-mediated complement activation. *Immunobiology* **212**, 301-311.
- Dommett, R. M., N. Klein, and M. W. Turner. 2006. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* **68**, 193-209.
- Duncan, R. C., L. C. Wijeyewickrema, and R. N. Pike. 2008.

- The initiating proteases of the complement system: controlling the cleavage. *Biochimie*. **90**, 387-395.
5. Fraser, I. P., H. Koziel, and R. A. Ezekowitz. 1998. The serum mannose-binding protein and the macrophage mannose receptor are pattern recognition molecules that link innate and adaptive immunity. *Semin. Immunol.* **10**, 363-372.
 6. Garred, P. 2008. Mannose-binding lectin genetics: from A to Z. *Biochem. Soc. Trans.* **36**, 1461-1466.
 7. Gupta, K., R. K. Gupta, and K. Hajela. 2008. Disease associations of mannose-binding lectin & potential of replacement therapy. *Indian J. Med. Res.* **127**, 431-440.
 8. Holmskov, U., R. Mallhotra, R. B. Sim, and J. C. Jensenius. 1994. Collectins: collagenous C-type lectins of the innate immune defense system. *Immunol. Today* **15**, 67-74.
 9. Hoppe, H. J. and K. B. Reid. 1994. Collectins: soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains and their roles in innate immunity. *Protein Sci.* **3**, 1143-1158.
 10. Janeway, C. A. Jr. and R. Medzhitov. 2002. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* **20**, 197-216.
 11. Kilpatrick, D. C. 2002. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfus. Med.* **12**, 335-352.
 12. Reading, P. C., M. D. Tate, D. L. Pickett, and A. G. Brooks. 2007. Glycosylation as a target for recognition of influenza viruses by the innate immune system. *Adv. Exp. Med. Biol.* **598**, 279-292.
 13. Sastry, K. and R. A. Ezekowitz. 1993. Collectins: pattern recognition molecules involved in first line host defense. *Curr. Opin. Immunol.* **5**, 59-66.
 14. Sjöwall, C. and J. Wetterö. 2007. Pathogenic implications for autoantibodies against C-reactive protein and other acute phase proteins. *Clin. Chim. Acta.* **378**, 13-23.
 15. Summerfield, J. A. 1993. The role of mannose-binding protein in host defence. *Biochem. Soc. Trans.* **21**, 473-477.
 16. Summerfield, J. A., S. Ryder, M. Sumiya, M. Thursz, A. Gorchein, M. A. Monteil, and M. W. Turner. 1995. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. *Lancet.* **345**, 886-889.
 17. Super, M. and R. A. Ezekowitz. 1992. The role of mannose-binding proteins in host defense. *Infect. Agents Dis.* **1**, 194-199.
 18. Thiel, S. 2007. Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan-binding lectin, ficolins and associated proteins. *Mol. Immunol.* **44**, 3875-3888.
 19. Turner, M. W. 2003. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol. Immunol.* **40**, 423-429.
 20. Wallis, R. and J. Y. Cheng. 1999. Molecular defects in variant forms of mannose-binding protein associated with immunodeficiency. *J. Immunol.* **163**, 4953-4959.